中華農業研究 28(2):91~99 (1979)

根瘤線蟲 *Meloidogyne incognita* 對薑之致病過程研究[1]

程 永 雄 杜 金 池[2]

摘要:根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita*) 侵入薑塊莖後不形成明顯之腫瘤。第2齡幼蟲自塊莖鱗片狀葉着生處內側侵入,使鄰近之細胞產生褐色壞疽,降低生薑之市場價值。第2齡幼蟲也從根冠附近侵入根系(鬚根及肉質根),遂移動到維管束附近攝食,生長並刺激形成不正常組織,包括細胞增生及巨型細胞等,產生肉眼可視別之腫狀根瘤。在 30°C 土壤溫度下, 該線蟲在薑根系完成一世代須21天,但在塊莖則要 40 天。侵染根系之雌蟲成熟後釋放卵塊到根部外面,為塊莖及根系的第二次侵染源。塊莖內之成熟雌蟲僅能在塊莖內部維管束附近生產卵塊,而未釋至土內,致使大部份孵化之2齡幼蟲侷限在病患處。

根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood) 對薑 (*Zingiber officinale* Roscae) 之危害,本省尚無文獻記載。在日本於 1930 年報導薑之根瘤線蟲 (12)。Queensland 亦曾報導危害薑之事實 (4)。但在夏威夷則嚴重危害薑的塊莖 (7)。

自 1975 年日本開放我國生薑及胡蘿蔔等根菜類之輸入以來,生薑在本省之栽培面積大幅增加。於 1978 年外匯額達三千萬美元 (1),而成為本省重要外銷蔬菜之一。近來根瘤線蟲之危害,隨農民一窩蜂之種植而加劇並普遍發生,特別在臺東栽培區域更為嚴重。日本對本省生薑之進口檢驗頗為嚴格,發現有根瘤線蟲之塊莖即予燬棄或重新檢選,使本省薑之出口遭受嚴重之損失。為瞭解薑根瘤線蟲病之罹病過程,特就根瘤線蟲侵害薑之部位,病變過程及其生活週期進行研究並提報告,以供為進一步探討有效防治法之依據。

材 料 及 方 法

本試驗為追蹤根瘤線對根部之侵染及採樣之方便,利用透明 PP 塑膠袋(12×15 cm)裝砂質壤土經 121°C 小時消毒後,置於陶土栽盆(直徑 12 cm),種植大冇種健全種薑(塊莖),待萌芽伸出莖葉及新塊莖長出根系後才接種線蟲。

供試根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White 1919) Chitwood, 1949),係分離自罹病薑塊莖並保存在番茄根部。首先挑取附在番茄根系之成熟卵囊,經 0.1 %次氯酸鈉 (Sodium hypochlorite) 表面消毒3分鐘經無菌水漂洗3次後,置於無菌水中,在 28°C 定溫箱過夜,待卵孵化後挑取第2齡幼蟲供為接種蟲體。將第2齡幼蟲注入盆栽生薑之土中,每栽盆接種百隻。每日觀察薑株之生長情形及病徵之出現與變化過程。另採取定點接種法,將第2齡幼蟲注入根圈之土中,供追蹤線蟲之侵染過程及調查其發育與生活週期。接種後即將栽盆置於水溫箱,維持 30°C 土壤溫度,並以植物生長燈(40 w)每日照明 14 小時。處理三天後定期採集挖取被線蟲侵害部位,依 Lactophenol

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 875 號。
2. 本所植物病理系技士,技正兼系主任。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

組織透化法[5]調查線蟲之侵染過程及線蟲之發育與齡期之變化，以便瞭解線蟲之生活史及病株之病變過程。

爲探討薑罹病後細胞組織之變化，本研究採用冷凍切片法 (Freezing microtonic technique)。分別將根及塊莖病患組織，以福爾馬林醋酸液 (FA) 固定後再以 Tissue Tex II O. C. T. compound 冷凍包埋 (−20°C)，經冷凍切片機作 10μ 薄切片，經 0.05% Acid Fuchsine Lactophenol 染色後觀察被害部位組織之變化。

試驗結果

一、病徵之觀察

根瘤線蟲對生薑根系包括肉質根 (Fleshy roots) 及鬚根 (Fibrous roots) 之危害所表現之病徵，如同在番茄根部一樣，也能引起典型之根瘤 (Root-knot)。第 2 齡幼蟲自根尖附近侵入引起腫大發展成明顯之瘤狀物 (圖 1 C)，阻礙根部之正常生長。對塊莖 (Rhizome) 之危害，自節間鱗片狀葉着生處侵入，但在外表並不產生明顯之腫狀瘤，僅呈現不明顯之隆起 (圖 2 A, B, C,)，惟內部感染處已呈現明顯之褐色壞疽病斑 (圖 2 D, E)。在地上部葉片於接種後六星期呈現黃化，自下葉由葉尖葉緣開始黃化 (圖 1 A, B)。

二、病原線蟲在薑組織內之發育過程

根瘤線蟲之發育及齡期係依 J. R. Christie 所描述根瘤線蟲齡期之圖型標準判定[3]。本試驗在土壤溫度 30°C 下進行，於接種後 3 天，第 2 齡幼蟲主要由根冠後方侵入 (圖 3 B)，偶而也由傷口處侵入 (圖 3 A)。往往數隻線蟲聚集在一起，使病患處加速並顯着腫大 (圖 3 C)。接種後第 6 天，48 %第 2 齡幼蟲發育成第 3 齡 (圖 3 D)，至第 15 天有 20 %幼蟲發育成第 4 齡 (圖 3 E, F) 及 8 %幼蟲發育爲第 5 齡 (成蟲) (圖 3 G)，餘爲第 3 齡幼蟲佔 60 %及第 2 齡幼蟲佔 12 %。接種後第 21 天，已有 33 %成熟雌蟲產卵囊於根瘤之外側 (圖 3 H)。第 24 天以後罹病根部內混雜有各齡期之線蟲及第二代之第 2 齡幼蟲。根瘤病徵之發生過程詳如圖 4。第 2 齡幼蟲在塊莖之危害，主要由莖節鱗片狀葉着生處侵入 (圖 2 B, C)，於接種後第 40 天才發現成熟雌蟲產卵。

三、病組織之解剖

根瘤線蟲在根部之感染，主要由根冠後方侵入，穿過表皮及皮層，終到達中柱 (Stele) 附近定居取食 (圖 3)，引起不正常的細胞分裂 (Hyperplasia)。在線蟲頭部周圍通常有 3 ～ 5 巨型細胞 (Giant cell) (圖 5 —B, C, D)，巨型細胞含有多個細胞核。巨型細胞之周圍出現不正常的木質部細胞。

根瘤線蟲危害塊莖，主要由節間侵入，穿過表皮到達皮層而在維管終附近定居取食，刺激產生多核之巨型細胞，並使細胞不正常分裂及形成木栓化細胞 (Cork cell) (圖 6 A)。侵入塊莖之第 2 齡幼蟲在固定取食處發育並成熟，產卵塊 (Egg mass) 於侵害處 (圖 6 B)，呈現褐色之壞疽病斑 (圖 1 D)。

討　　論

根瘤線蟲可加害植物之根[2,13]、莖[15,16]、葉[10,11,14]、塊根[8,9]及塊莖[4,7]等部位。本研究證實根瘤線蟲侵害生薑，使肉質根及鬚根產生根瘤及塊莖發生內部壞疽病斑以外，在地上部葉片還呈現黃化現象，老葉自葉尖葉緣開始黃化 (圖 1 A, B)。田間罹根瘤線蟲病株，發病後期之病徵與罹軟腐病株之外觀相類似，均呈現莖及葉黃化枯萎現象，故除由地際部莖葉之腐爛 (軟腐病) 及根部瘤狀物 (根瘤線蟲病) 之視別外，實難於區分。在某些地區，同一病株可發現上述兩種病原體同時存在，彼此之間是否有協助關係，有待進一步之觀察試驗。

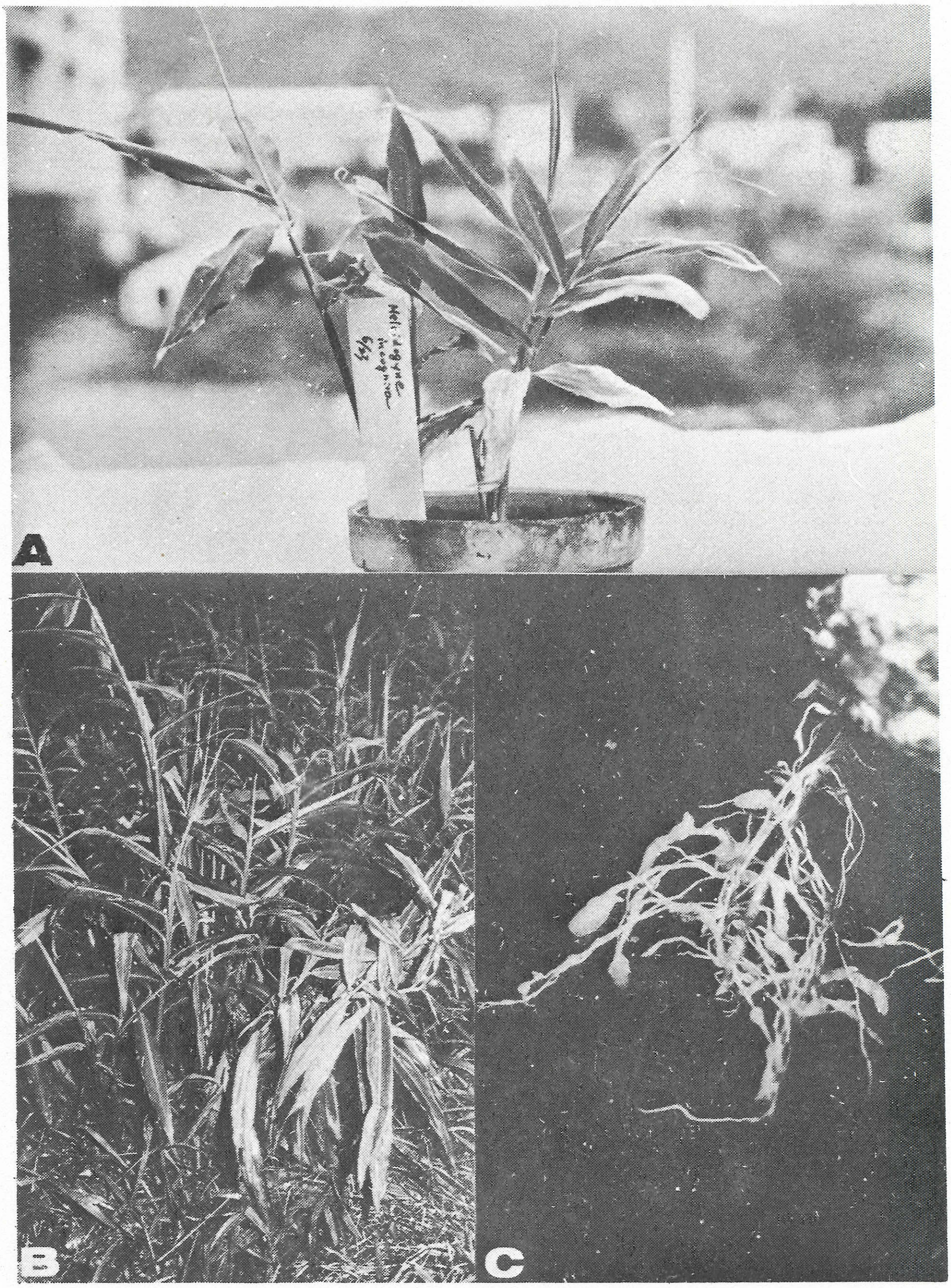

圖 1. 根瘤線蟲引起之葉部及根部病徵

A. 盆栽接種試驗表現之黃化葉片。 B. 田間感染根瘤線蟲之病株，呈現明顯之黃化葉片。
C. 根瘤線蟲引起之根瘤。

Fig. 1. Symptoms on leaves and roots of ginger caused by root-knot nematode. A. Yellowing of leaves on pot-growth ginger after inoculation of *Meloidogyne incognita*. B. Yellowing of ginger leaves in field infection. C. Root knot developed on root system.

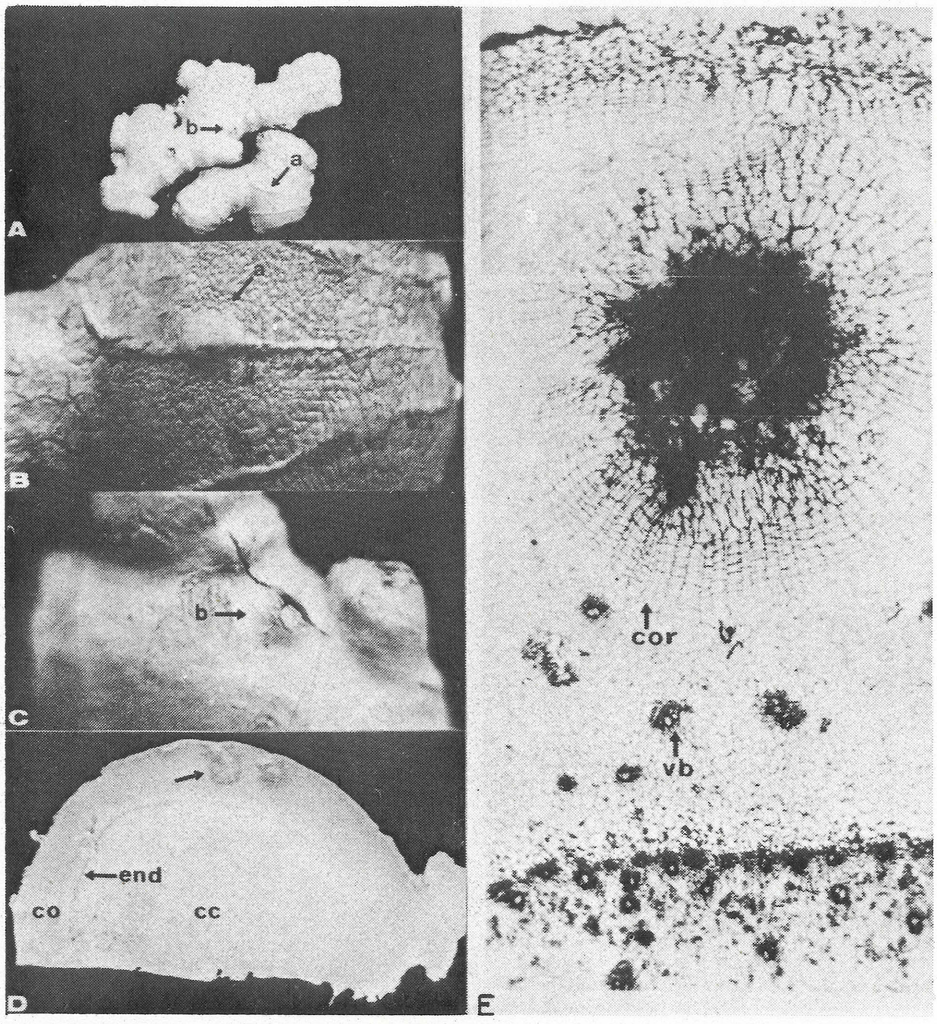

圖 2. 根瘤線蟲引起之塊莖病徵

A. 外表病徵（×0.5）。 B 及 C. 外部病徵之近距離特徵（×2.5）。 D. 根瘤線蟲所引起之內部壞疽病斑（上方箭頭）（×2.5）。 co：皮層，end：內皮層，cc ：中心柱。E：內部病斑之近距離特徵（×35）。 vb：維管束，cor：木栓細胞。

Fig. 2. Symptom in rhizome caused by root-knot nematode. A. External symptom (x 0.5). B & C. Close-views of external symptow (x 2.5). D. A cross section showing internal lesion (upper arrow) caused by *Meloidogyne incognita* (x 2.5). co : Cortex, end : Endodermis, cc : Central cylinder. E. A magnified view of transverse section through internal lesion (x 35). vb : Vascular bundle, cor : Cork cells.

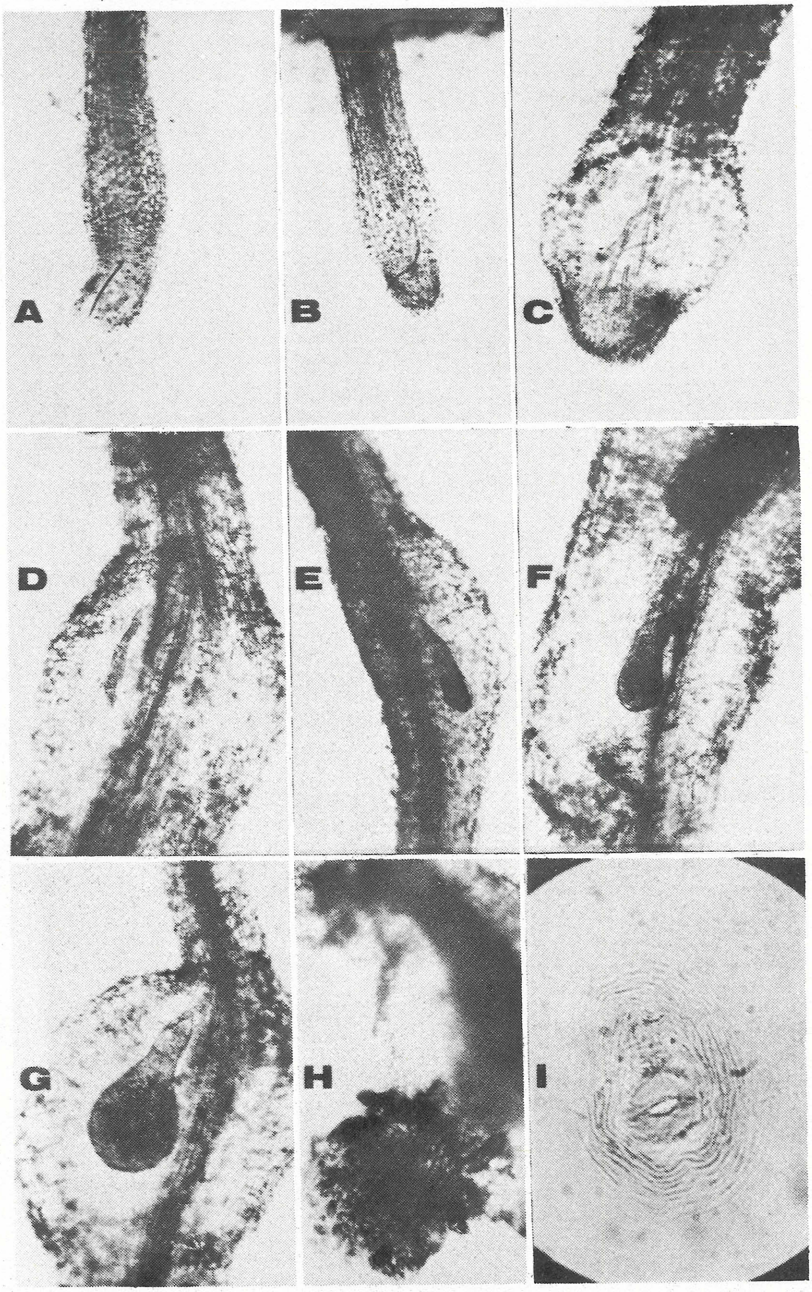

圖 3. 根瘤線蟲在根部之發育過程

A 及 B. 第二齡幼蟲侵入根部（×10）。 C. 多隻幼蟲侵染同一部位（×15）。 D. 第三齡幼蟲（×15）。 E 及 F. 第四齡幼蟲（×15）。 G. 成熟雌蟲（×18）。 H. 成熟雌蟲產卵塊於根瘤之外面（×18）。 I. *Meloidogyne incognita* 成熟雌蟲陰門模紋型（×600）。

Fig. 3. Various stages of larva developing in the infected root. A & B. Penetration of the second-stage larva (x 10). C. Many larvae penetrated at the same site (x 15). D. Third-stage larva (x 15). E & F. Fourth-stage larva (x 15). G. Adult female (x 18). H. Mature female laying egg mass (x 18). I. Perineal pattern of mature female of *M. incognita* (x 600).

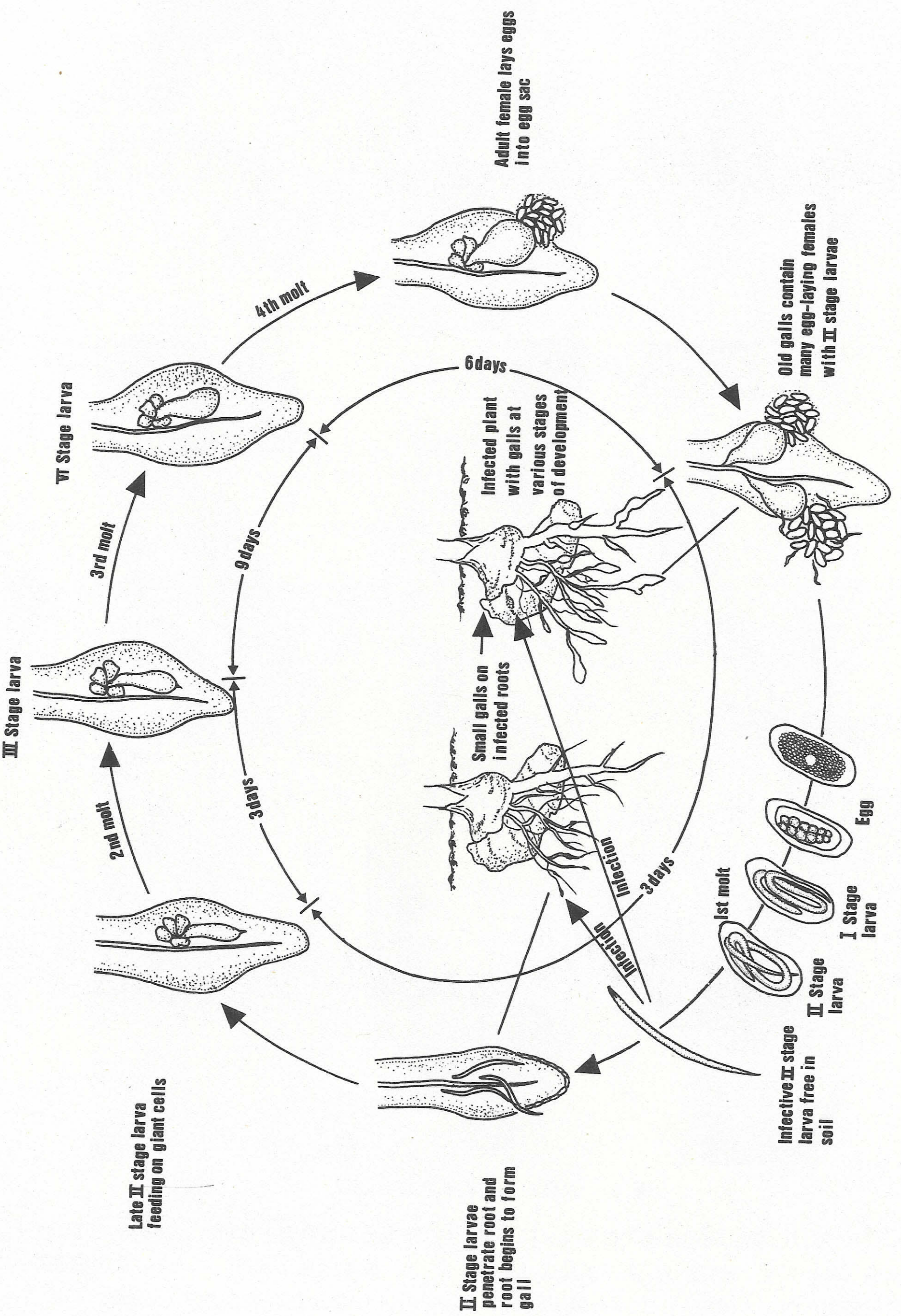

圖 4. 根瘤線蟲對生薑之致病過程

Fig. 4. A diagrammatic disease cycle of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on ginger.

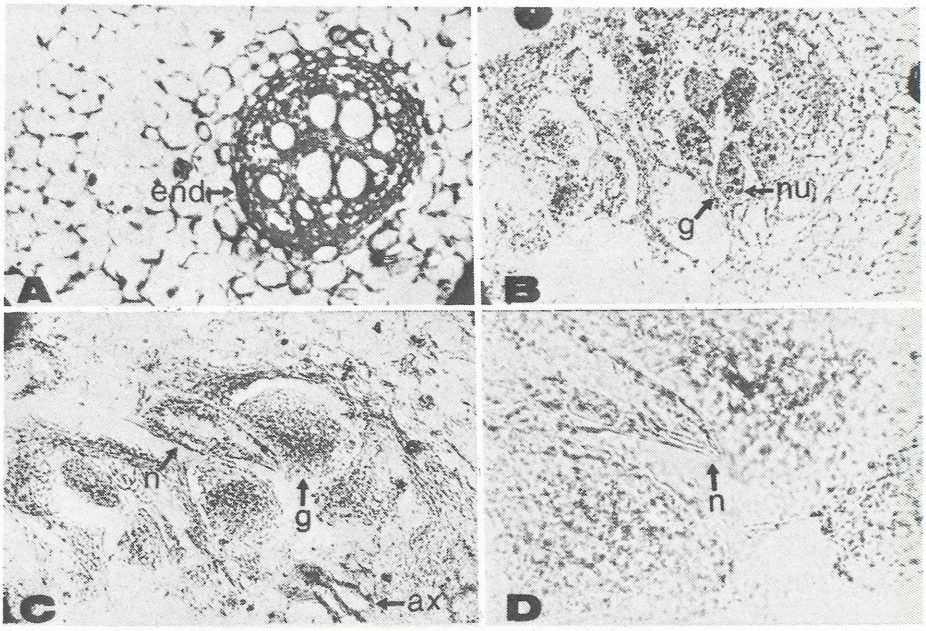

圖 5. 根瘤之病組織解剖

A. 健全根部之橫切面（×70）。 end：內皮層。 B. 根瘤之橫切面顯示有多核之巨型細胞（×100）。g：巨型細胞，nu：細胞核。 C. 第三齡幼蟲頭部圍繞着巨型細胞（×100）。 n：根瘤線蟲，ax：不正常木質細胞。 D. C之近距離特徵（×300）。

Fig. 5. Histopathology of nematode infected ginger root. A. A transverse section of non-infected root (x 70). end : Endodermis. B. A transverse section of infected roots showing multinucleate giant cell (x 100). g : Giant cell, nu : Nucleus. C. Giant cells surrounding anterior end of 3rd-stage juvenile with spikate tail (x 100). n : Nematode, ax : Abnormal xylem. D. A magnified view of fig. C (x 300).

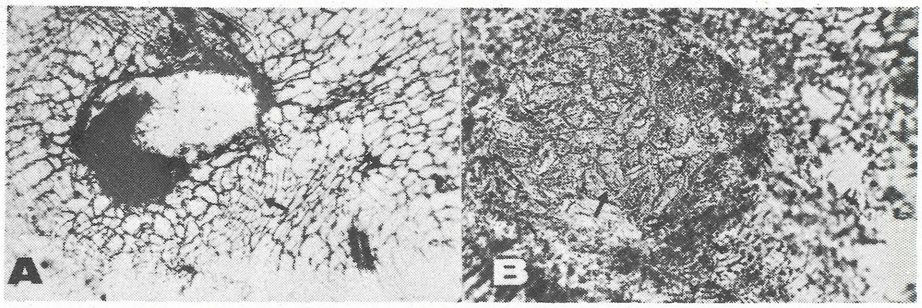

圖 6. 感染根瘤線蟲之塊莖組織解剖

A. 內部病斑之橫切面，成熟雌蟲所留下之空位（×70），根瘤線蟲侷限在木栓化細胞層內（箭頭）。B. 卵塊產於病組織內（×70）。

Fig. 6. Histopathology of nematode infected ginger rhizome. A. A transverse section through internal lesion showing the cavity of a mature female left. Arrow showing cork cells (x 70). B. A tıansverse section through egg mass (Arrow).

根瘤線蟲危害生薑之根系鬚根和肉質根引起根瘤。第2齡幼蟲侵染根部穿過表皮及皮層而到達中柱，在維管束附近定居取食，引起細胞不正常分裂，及形成巨型細胞。正如 J. R. Christie 等氏之觀察，巨型細胞之形成通常是發生在維管束組織（Vascular tissue）[2,6]。本研究發現根組織皮層細胞（Cortex）並沒發現巨型細胞之存在。第2齡幼蟲侵染根部後即在維管束組織發育，於接種後 21 天（在土壤溫度 30°C），發育爲成熟雌蟲並釋放卵塊於根瘤外面，成爲塊莖及根系之主要第二次侵染源（圖3 H）。

根瘤線蟲侵染生薑可食部份塊莖，雖不引起外表明顯之瘤狀物，但引起內部壞疽病斑，影響商品價值至鉅。在臺東市場調查 21 塊薑，感染根瘤線蟲者有 17 塊，被害率達 80 %之多。侵入之根瘤線蟲其成熟雌蟲經作陰門模紋切片（Perineal pattern）鑑定爲 *M. incognita*（圖3 I）。根瘤線蟲侵染塊莖係經由表皮而到達皮層細胞，在維管束（Vascular bundle）附近定居取食，引起不正常的細胞分裂，刺激產生巨型細胞以及木栓化細胞。侵入線蟲被侷限在被害組織內，發育成熟並產卵塊於被害組織內（圖6），使塊莖產生褐色之壞疽斑，影響塊莖之食用價值。

塊莖組織之橫斷面可區分爲表皮（Epidermis）、皮層（Cortex）、內皮層（Endodermis）以及中心柱（Central cylinder）（圖2D）。維管束不規則的分佈在皮層及中心柱。根瘤線蟲侵染塊莖，大部份發生在皮層維管束組織，少數也會達到中心部份之維管束附近。基於此特性，防治本病害，除選擇根瘤線蟲密度低之農田種植或事先經殺線蟲劑之處理外，宜進行種薑（塊莖）處理，以杜絕種薑携帶病源線蟲而媒介傳播。爲達此目的，溫湯處理種薑仍不失爲目前最有效而經濟之方法。

參考文獻

1. 胡清柏・1978・外銷農產・農業周刊 4(38)：4.
2. Christie, J. R. 1936. The development of root-knot nematode gall. Phytopathology 26 : 1-22.
3. Christie, J. R. 1946. Host-parasite relationships of the root-knot nematode, *Heterodera marioni*. II. Some effects of the host on the parasite. Phytopathology 36 : 340-352.
4. Colbran, R. C. 1961. Root-knot of ginger. Queensland J. Agr. Sci. 87 : 546-574.
5. Goodey, J. B. 1963. Laboratory methods for work with plant and soil nematode. Tech. Bull. 2, Minist. Agr. Fish. and Food. London H. M. S. O, 4th ed. 72pp.
6. Hodges, C. F. and D. P. Taylor. 1966. Host-parasite interactions of a root-knot nematode and creeping bentgrass, *Agrostis palustris*. Phytopathology 56 : 88-91.
7. Huang, Chaw-Shung. 1966. Host-parasite relationships of the root-knot nematode in edible ginger. Phytopathology 56 : 755-756.
8. Jenkins, W. R. and G. W. Bird. 1962. Nematodes associated with wild yam, *Dioscorea* sp. with special reference to the pathogenicity of *Meloidogyne incognita incognita*. Plant Dis. Reptr. 46 : 858-860.
9. Kusberg, L. R. and L. W. Nielsen. 1958. Pathogenesis of root-knot nematodes to the Porto Rico variety of sweetpotato. Phytopathology 48 : 30-39.
10. Linford, M. B. 1941. Parasitism of the root-knot nemetode in leaves and stems. Phytopatology 31 : 634-648.
11. Miller, H. N. and A. A. Di Edwards. 1962. Leaf galls on *Siderasis fuscata* caused by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Phytopathology 62 : 1070-1073.
12. Nagakura, K. 1930. Uber den Bau und die Lebesgeschichte der *Heterodera radicicola* (Greef) Muller. Jan J. Zool. 3 : 95-160.
13. Ogbuji, R. O. 1976. Giant cell formation in corn roots caused by *Meloidogyne hapla* infection. Nematologica 22 : 62-64.

14. Powell, N. T. and E. L. Moore. 1961. A technigue for inoclation leaves with root-knot nematodes. Phytopathology 51 : 201-202.

15. Taylor, D. P. 1976. Histopathology of *Meloidogyne*-induced galls on the stems of roselle, *Hibiscus sabdariffa*. Nematologica 22 : 219-221.

16. Wong, C. L. and H. J. Willetts. 1969. Gall formation in aerial parts of plants incoculated with *Meloidogyne javanica*. Nematologica : 15 : 425-428.

Pathogenesis of *Meloidogne incognita* to edible ginger [1]

Y. H. Cheng and C. C. Tu [2]

Summary

The second-stage larvae of *Meloidogyne incognita* enter the ginger rhizome through the axil of leaf sheath at the shoot apex, resulting the appearance of extensive internal lesions. No visible galls are formed on the infected rhizome throughout the entire period of pathogenesis. The lervae infect root system, including fibrous and fleshy roots, at the root-tip rigions. They penetrate through epidermis and cortex, and aggregate at vascular tissues (stele). As the results of nematode feeding, histological changes, such as formation of giant cells, hyperplastic parenchyma and abnormal xylem, are stimulated. Subsequently, externally visible galls are formed.

The nematode takes 21 days to complete the life cycle in fibrous and fleshy roots, but requires 40 days in rhizomes at 30°C soil temperature. Mature females release egg masses into the soil from diseased fibrous roots to serve as the main source of secondary inoculum. On the other hand, the mature females in diseased rhizome lay egg masses only in the diseased tissues, and thus, the second-stage larvae are limited in there.

1. Contribution No. 875 from the Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Plant Pathologist, Senior Plant Pathologist and Head, Department of Plant Pathology, respectively, TARI. Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, ROC.